

file  
copy

L10 ANSWER 21 OF 30 CAPLUS COPYRIGHT 2002 ACS

ACCESSION NUMBER: 1970:431861 CAPLUS

DOCUMENT NUMBER: 73:31861

TITLE: Action of acidic phosphomonoesterase of wheat bran on the methylamide of N-benzoyl-O-pyrophosphoserine

AUTHOR(S): Avaeva, S. M.; Ras'kova, N. V.

CORPORATE SOURCE: Mosk. Gosuniv. im. Lomonosova, Moscow, USSR

SOURCE: Khim. Prir. Soedin. (1969), 5(6), 551-4

CODEN: KPSUAR

DOCUMENT TYPE: Journal

LANGUAGE: Russian

AB Methylamides of N-benzoyl-O-pyrophosphoserine (I) and N-benzoyl-O-phosphoserine (II) are both hydrolyzed by acid phosphatase extd. from wheat bran. The enzyme has max. activity at pH 5.0-5.5 and is more specific for I, which is hydrolyzed to II, than for II, which is hydrolyzed to the methylamide of N-benzoylserine. Thus, 71% of I is hydrolyzed in 15 min at pH 5.0, 37.degree. in acetate buffer, while only 12.8% of II is hydrolyzed under these conditions. Tests with p-nitrophenyl phosphate as donor and glucose, ethanolamine, glycerol, and other alcs. as acceptors indicate that the title enzyme has no phosphotransferase activity.

IT 18942-69-3

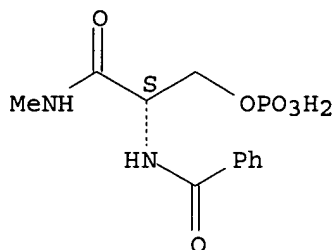
RL: RCT (Reactant)

(reaction of, with acid phosphatase)

RN 18942-69-3 CAPLUS

CN Benzamide, N-[2-(methylamino)-2-oxo-1-[(phosphonoxy)methyl]ethyl]-, (S)-(9CI) (CA INDEX NAME)

Absolute stereochemistry.



THE EFFECT OF ACID PHOSPHOMONOESTERASE OF WHEAT BRAN ON  
N-BENZOYL-O-PYROPHOSPHOSERINE METHYL AMIDE

S. M. Avaeva and N. V. Ras'kova

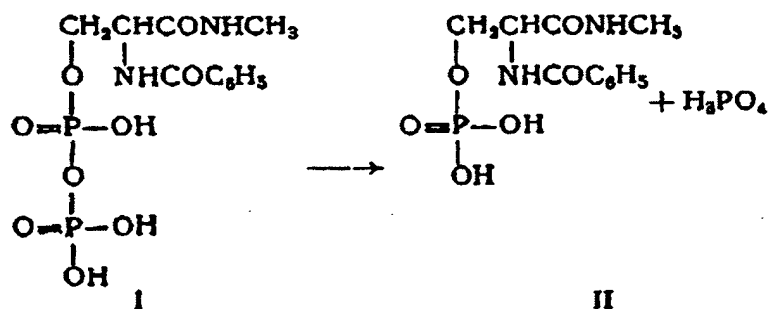
# THE EFFECT OF ACID PHOSPHOMONOESTERASE OF WHEAT BRAN ON N-BENZOYL-O-PYROPHOSPHOSERINE METHYL AMIDE

[Deistvie kisloi fosfomonozeterazy otrubei pshenitsy na metilamid N-benzoil-O-pirofosfoserina]

One possible approach to solving questions of the chemical nature of the phosphorus bonds of phosphoproteins and their conversions during metabolism is the synthesis of model compounds and investigation of their properties. In connection with this we worked out synthesis methods and investigated some properties of diseryl pyrophosphates [1] and seryl pyrophosphates [2].

The pyrophosphorus bonds of seryl pyrophosphates are easily hydrolyzed by such enzymes as alkali phosphatase of *E. coli* [3] and inorganic yeast pyrophosphatase [4], O-pyrophosphoserine is hydrolyzed by the acid phosphatase of wheat bran [5]. In the presence of serine or ethanolamine a phosphotransferase reaction takes place in the reaction mixture, along with the hydrolysis of N-benzoyl-O-pyrophosphoserine methyl amide [I] by alkali phosphatase of *E. coli*, i.e., enzymatic synthesis of phosphoserine or phosphoethanolamine takes place [6].

The results of hydrolysis of N-benzoyl-O-pyrophosphoserine methyl amide (I) by wheat bran acid phosphatase was studied with the goal of ascertaining the ability of this enzyme to catalyze the phosphotransferase reaction involving seryl pyrophosphate (I) and N-nitrophenyl phosphate. It was established that seryl pyrophosphate (I) rapidly hydrolyzes under the effect of the acid phosphatase, primarily forming N-benzoyl-O-phosphoserine methyl amide (II) and phosphoric acid.

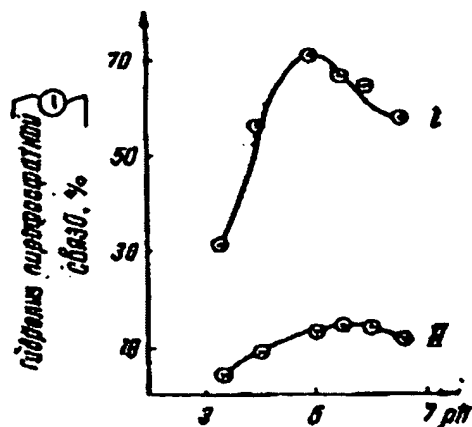


We investigated the dependence of the percent of enzymatic decomposition of seryl pyrophosphate (I) on the pH of the reaction medium (figure). It follows from the data that were obtained that seryl pyrophosphate (I) is hydrolyzed by wheat bran phosphatase at a high rate; the highest enzyme activity is seen in the pH 5.0-5.5 region. Hydrolysis of seryl monophosphate (II) was carried out in order to compare the rates of decomposition of the pyrophosphorus and phosphomonoester bonds (see figure). It should be emphasized that the rate of decomposition of the pyrophosphorus bond of seryl pyrophosphate (I) is significantly higher than that of the

phosphomonoester bond of seryl monophosphate (II). Thus, at pH 5.0 (37°C) in an acetate buffer seryl pyrophosphate (I) decomposes by 71% in 15 min, while seryl monophosphate (II) decomposes by 12.8%.

The composition of the buffer has little effect on the percent of hydrolysis of I and II (at pH 5.0 I hydrolyzes by 65.4% in a citrate buffer and 71% in an acetate buffer). It was noted earlier that the composition of the buffer had a significant effect on the rate of hydrolysis of O-pyrophosphoserine (at pH 5.5 O-pyrophosphoserine hydrolyzed by 53% in a citrate buffer, but by 16% in an acetate buffer [5]).

It is known that many alkali [7] and acid [8] phosphatases have phosphotransferase activity, in addition to phosphatase activity. It was necessary to ascertain the ability of the acid phosphatase to catalyze the synthesis of phosphoric esters. Seryl pyrophosphate [I] was used as a donor of a phosphoric acid residue, and ethanolamine was used as an acceptor. Analysis of the reaction mixture showed that hydrolysis of seryl pyrophosphate (I) by acid phosphatase from wheat bran in the presence of the acceptor is not accompanied by a phosphotransferase reaction. It was still unclear to what the absence of synthesis activity was due—to the properties of the donor or of the enzyme. Therefore, studies were carried out with one of the most widely used donors in phosphotransferase reactions of phosphomonoesterases—p-nitrophenyl phosphate. The course of the reaction was observed by determining the quantities of p-nitrophenyl and phosphoric acid. Glucose, ethanolamine, methyl and propyl alcohols, glycerol and butane-1,4-diol were used as acceptors. The ratio of the concentrations of p-nitrophenyl phosphate to acceptor was varied for glucose in the following ranges: 1:12.5; 1:25; 1:50; 1:100; 1:200; 1:300; 1:1000; for ethanolamine: 1:100; 1:200; 1:300; 1:500. For the other acceptors this ratio was 1:500. The incubation time with glucose and ethanolamine was from 5-30 min, with propanol it was 15 min to 3 h. For the other acceptors the incubation time was 15 min, the reaction was conducted at 25 and 37°C and pH 5.5, and with propanol also at pH 5.2. However, equimolar quantities of p-nitrophenol and inorganic phosphate were detected in all instances. All of these data speak of absence of phosphotransferase activity for the acid phosphatase. The results suggest that the structure of the active center and the mechanism of action of the acid phosphatase from wheat bran differ from those for nonspecific alkali and acid phosphatases with phosphotransferase activity.



Hydrolysis of pyrophosphoric bond of seryl pyrophosphate (I) and phosphomonoester bond of seryl monophosphate (II) by wheat bran acid phosphatase in dependence on pH.

Key: 1 Hydrolysis of pyrophosphate bond, %

It should be noted that in the literature there are data indicating that a preparation that hydrolyzes phosphomonoesters and phytin, but does not have phosphotransferase activity, has been isolated from rye seeds [9].

#### Experimental part

A freeze dried preparation of acid phosphatase from wheat bran produced by the Reanal Company, Hungary, was used in the study; an aqueous solution containing 1.5 mg per mL was prepared.

N-Benzoyl-O-pyrophosphoserine methyl amide and N-benzoyl-O-phosphoserine methyl amide (II) were synthesized by previously described methods [10-11]. The amount of inorganic phosphate was determined by a modification of the Fiske-Subbarow technique [12];  $\beta$ -nitrophenol was determined spectrophotometrically by measuring the density of its color in an alkaline solution at 400  $\mu$ m and comparing it with the density of a standard solution of p-nitrophenol.

The concentration of solutions of seryl pyrophosphatase (I), seryl monophosphate (II) and p-nitrophenyl phosphate was found by mineralizing the substances to the inorganic phosphate (140-150°C, 3 h with  $\text{HClO}_4$ ).

Analysis of reaction mixture. The analysis was carried out on an amino acid analyzer made by Evans Electroselenium Limited LGD (England) after stopping the reaction by adding an equal volume of 10% TCA, 10 min centrifuging at 3000 rpm and bringing the solution up to a pH of 2.2. The mixture was applied to a column (0.9 x 150 cm) containing Amberlit CG-120 (Cl) resin; it was eluted with a 0.2M citrate buffer with pH 3.25.

The reaction mixture was analyzed by column chromatography on a Dowex 1 x 2 anion exchange resin (200-400 mesh, 47 x 1.8 cm). The substances were eluted with a steadily rising gradient: from 0.1M formic acid to 1M pyridine formate (mixing vial volume 650 mL). Under these elution conditions the phosphoethanolamine emerged in the first 100 mL eluate. The eluate was vacuum evaporated to a small volume (0.3-0.5 mL) and analyzed by paper chromatography in a system consisting of propanol and 2N ammonia (70:30), by electrophoresis (1000 V, 2 h, pH 5.6), and by mineralization at 140-150°C for 3 h using  $\text{HClO}_4$ .

**Enzymatic hydrolysis.** The process was studied by using a reaction mixture containing 1  $\mu\text{mol}$  substrate, 2  $\mu\text{mol}$   $\text{MgSO}_4$ , 50  $\mu\text{mol}$  citric or acetate buffer and 150  $\mu\text{g}$  enzyme in 1 mL; the mixture was incubated for 15 min at 37°C. The reaction was stopped by adding an equal volume of 10% trichloroacetate and the quantity of separated inorganic phosphate was determined.

**Phosphotransferase activity of acid phosphatase.** The study was carried out in a reaction mixture containing 5  $\mu\text{mol}$  seryl pyrophosphate (I) or p-nitrophenyl phosphate, 500  $\mu\text{mol}$  ethanolamine previously brought up to pH 5.5 by adding HCl and 250  $\mu\text{g}$  enzyme in 0.5 mL. The mixture was incubated for 30 min at 37°C and analyzed on the amino acid analyzer.

The reaction mixture (pH 5.5) containing 5  $\mu\text{mol}$  seryl pyrophosphate (I), 1000  $\mu\text{mol}$  ethanolamine and 125  $\mu\text{g}$  enzyme in 0.5 mL was held for 30 min at 37°C; it was analyzed by column chromatography.

The reaction mixture containing 1  $\mu\text{mol}$  p-nitrophenyl phosphate, 500  $\mu\text{mol}$  methanol, propanol, glycerol, glucose or butane-1,4-diol, 50  $\mu\text{mol}$  acetate buffer with pH 5.5 and 150  $\mu\text{g}$  enzyme in 0.5 mL was incubated for 15 min at 25°C. The reaction was stopped by adding 10% trichloroacetate. The quantity of p-nitrophenol and phosphoric acid was measured in an aliquot portion of the resulting solution. In all cases the formation of equimolar quantities of both hydrolysis products was observed.

How the concentration of the acceptor affects the phosphotransferase activity of the enzyme was determined by several methods: a) in a reaction mixture containing 5  $\mu\text{mol}$  p-nitrophenyl phosphate, 500, 1000 or 2000  $\mu\text{mol}$  glucose, 50  $\mu\text{mol}$  acetate buffer (pH 5.5) and 150  $\mu\text{g}$  enzyme in 0.5 mL; the mixture was incubated for 10 min at 25°C; the quantity of liberated p-nitrophenol and phosphoric acid was found in an aliquot portion of the reaction mixture and equimolar quantities of both substances were detected; b) a reaction mixture (pH 5.5) containing 5  $\mu\text{mol}$  p-nitrophenyl phosphate, 500, 1000 or 1500  $\mu\text{mol}$  ethanolamine and 150  $\mu\text{g}$  or 600  $\mu\text{g}$  enzyme in 0.5 mL was incubated for 5 min at 37°C. Further processing was as in (a).

The effect of the incubation time on the phosphotransferase activity of the enzyme was determined by: a) in a reaction mixture (pH 5.5) containing 5  $\mu\text{mol}$  p-nitrophenyl phosphate,

500  $\mu\text{mol}$  ethanolamine and 150  $\mu\text{g}$  enzyme in 0.5 mL; the mixture was incubated for 5, 20 and 40 min at 37°C; b) a reaction mixture containing 1.0  $\mu\text{mol}$  p-nitrophenyl phosphate, 500  $\mu\text{mol}$  propanol, 50  $\mu\text{mol}$  acetate buffer (pH 5.5 or 5.2) and 30  $\mu\text{g}$  enzyme in 0.5 mL was incubated 1 or 2 h at 25°C. Formation of equimolar amounts of p-nitrophenol and inorganic phosphate occurred in all instances.

The seryl-containing compounds used in the study were derivatives of D,L-serine.

## Conclusion

The pyrophosphoric bond of N-benzoyl-O-pyrophosphoserine methyl amide is broken by the acid phosphatase from wheat bran. The rate of decomposition of the pyrophosphoric bond is significantly higher than that of the phosphomonoester bond. The preparation of acid phosphatase from wheat bran does not catalyze a phosphotransferase reaction, which indicates the different structure of the active centers and the mechanisms of action of acid phosphatase from wheat bran and alkali phosphatase from *E. coli*.

## References

- [1] S. M. Avaeva et al., ZhOKh, in: The Chemistry of natural compounds, their analogs and fragments [in Russian], 154 (1965).
- [2] S. M. Avaeva et al., ZhOKh, 36, 1509 (1966).
- [3] S. M. Avaeva et al., ZhPS, 328 (1967); S. M. Avaeva et al., DAN SSSR, 172, 1436 (1967).
- [4] S. M. Avaeva et al., Biochim., 32, 5 (1967).
- [5] S. M. Avaeva et al., Vestnik MGU, ser. khim., No. 4, 87 (1967).
- [6] S. M. Avaeva et al., Biochim., 33, 847 (1968).
- [7] O. Meyerhof, H. Green, Science, 110, 503 (1949); R. Morton. Biochem. J. 70, 139 (1957); J. Wilson, J. Dayan, K. Cyr. J. Biol. Chem., 239, 4182 (1964).
- [8] B. Axelrod, J. Biol. Chem., 172, 1 (1948); O. Meyerhof, H. Green, J. Biol. Chem., 178, 655 (1949); R. Morton. Biochem. J. 70, 150 (1958); J. Ullrich, M. Calvin. Biochem. Biophys. Acta, 63, 1 (1962).
- [9] C. Anagnostopoulos, A. Lino, Bull. Soc. Chim. Biol., 39, 781 (1957).
- [10] S. M. Avaeva et al., Vestnik MGU, No. 4, 121 (1968).

- [11] S. M. Avaeva, M. M. Botvinik, I. F. Syromyatnikova. *Acta Chim. Hung*, 44, 223 (1965).
- [12] H. Weil-Malherbe, R. Grenn. *Biochem. J.*, 49, 286 (1951).



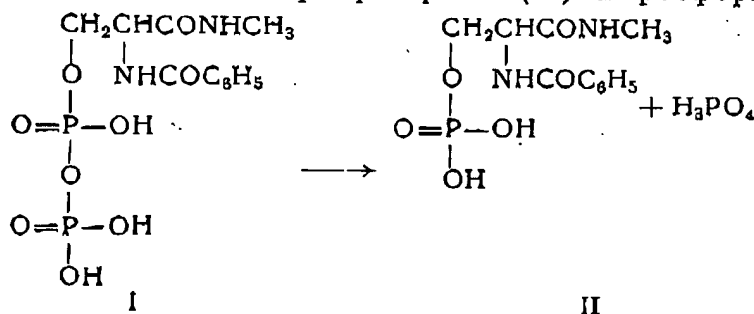
# ДЕЙСТВИЕ КИСЛОЙ ФОСФОМОНОЭСТЕРАЗЫ ОТРУБЕЙ ПШЕНИЦЫ НА МЕТИЛАМИД N-БЕНЗОИЛ-О-ПИРОФОСФОСЕРИНА

С. М. Аваева, Н. В. Раськова

Одним из возможных подходов к решению вопросов о химической природе фосфорных связей фосфопротеинов и об их превращениях в метаболизме является синтез модельных соединений и исследование их свойств. В связи с этим мы разработали методы синтеза и изучили некоторые свойства дисерилпирофосфатов [1] и серилпирофосфатов [2].

Пирофосфорные связи серилпирофосфатов легко гидролизуются такими ферментами, как щелочная фосфатаза *E. coli* [3] и неорганическая пирофосфатаза дрожжей [4]. О-пирофосфосерин гидролизует кислой фосфатазой отрубей пшеницы [5]. В присутствии серина или этаноламина в реакционной смеси наряду с гидролизом метиламида N-бензоил-О-пирофосфосерина (I) щелочной фосфатазой *E. coli* происходит фосфотрансферазная реакция, т. е. идет ферментативный синтез фосфосерина или фосфоэтанолamina [6].

В настоящей работе приведены результаты гидролиза метиламида N-бензоил-О-пирофосфосерина (I) кислой фосфатазой отрубей пшеницы с целью выяснения возможности этого фермента катализировать фосфотрансферазную реакцию с участием серилпирофосфата (I) и п-нитрофенилфосфата. Установили, что под действием кислой фосфатазы серилпирофосфат (I) быстро гидролизует, образуя в первую очередь метиламид N-бензоил-О-фосфосерина (II) и фосфорную кислоту.

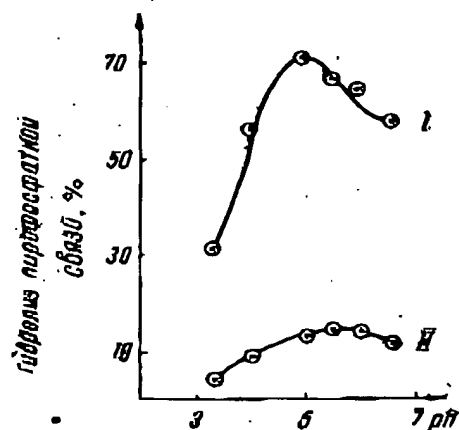


Мы исследовали зависимость процента ферментативного расщепления серилпирофосфата (I) от pH реакционной среды (рисунок). Из полученных данных следует, что серилпирофосфат (I) гидролизует фосфатазой из отрубей пшеницы с высокой скоростью; наибольшая активность фермента проявляется в области pH 5,0—5,5. Для сравнения скоростей расщепления пирофосфорной и фосфомоноэфирной связей провели гидролиз и серилмонофосфата (II) (см. рисунок). Следует подчеркнуть, что скорость расщепления пирофосфорной связи серилпирофосфата (I) значительно выше, чем фосфомоноэфирной связи серилмонофосфата (II). Так, при pH 5,0 (37°) в ацетатном буфере серилпирофосфат (I) расщепляется за 15 мин. на 71%, а серилмонофосфат (II) — на 12,8%.

Состав буфера мало влияет на процент гидролиза I и II (при pH 5,0 в цитратном буфере I гидролизует на 65,4%, а в ацетатном — на 71%). Ранее отмечалось, что на скорость гидролиза О-пирофосфосерина состав буфера оказывал существенное влияние (при pH 5,5 в

цитратном буфере О-пирофосфосерин гидролизывался на 53%, а в ацетатном — на 16 [5].

Известно, что многие щелочные [7] и кислые [8] фосфатазы, помимо фосфатазной, обладают также фосфотрансферазной активностью. Необходимо было выяснить способность кислой фосфатазы катализировать синтез фосфорных эфиров. В качестве донора остатка фосфорной кислоты использовали серилпирофосфат (I), а акцептора —



Гидролиз пиррофосфорной связи серилпирофосфата (I) и фосфомоноэфирной связи серилмонофосфата (II) кислой фосфатазой из отрубей пшеницы в зависимости от pH.

этаноламин. Анализ реакционной смеси показал, что гидролиз серилпирофосфата (I) кислой фосфатазой из отрубей пшеницы в присутствии акцептора не сопровождается фосфотрансферазной реакцией. Оставалось неясным, с чем связано отсутствие синтетической активности — с особенностями донора или фермента. Поэтому провели исследования с одним из наиболее широко используемых доноров в фосфотрансферазных реакциях фосфомоноэстераз — с *n*-нитрофенилфосфатом. Наблюдали за ходом реакции, определяя количества *n*-нитрофенола и фосфорной кислоты. В качестве акцепторов использовали глюкозу, этаноламин, метиловый и пропиловый спирты, глицерин и бутан-1,4-диол. Отношение концентраций *n*-нитрофенилфосфата к акцептору меняли для глюкозы в следующих пределах:

1 : 1000; для этаноламина: 1 : 100; 1 : 200; 1 : 300; 1 : 500. Для остальных акцепторов это отношение равно 1 : 500. Время инкубации с глюкозой и этанолмином от 5 до 30 мин. и с пропанолом — от 15 мин. до 3 час. Для остальных акцепторов продолжительность инкубации составляла 15 мин., реакцию проводили при 25 и 37° и pH 5,5, а с пропанолом еще и при pH 5,2. Однако во всех случаях обнаруживали эквимоллярные количества *n*-нитрофенола и неорганического фосфата. Все эти данные говорят об отсутствии фосфотрансферазной активности у кислой фосфатазы. Полученные результаты позволяют предположить, что строение активного центра и механизм действия кислой фосфатазы отрубей пшеницы отличаются от таковых для неспецифических щелочных и кислых фосфатаз с фосфотрансферазной активностью.

Следует отметить, что в литературе имеются данные о том, что из семян ржи выделен препарат, гидролизующий фосфомоноэфиры и фитин, но не обладающий фосфотрансферазной активностью [9].

#### ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

В работе использовали лиофилизированный препарат кислой фосфатазы отрубей пшеницы фирмы «Реанал», Венгрия; готовили водный раствор, содержащий 1,5 мг в 1 мл.

Метиламид *N*-бензоил-О-пирофосфосерина и метиламид *N*-бензоил-О-фосфосерина (II) синтезировали по ранее описанным методам [10—11]. Количество неорганического фосфата определяли по видоизмененной методике Фиске и Суббароу [12]; *n*-нитрофенола — спектрофотометрически, измеряя плотность его окраски в щелочной среде при 400 мкм и сравнивая с плотностью стандартного раствора *n*-нитрофенола.

Концентрацию растворов серилпирофосфата (I), серилмонофосфата (II) и *n*-нитрофенилфосфата находили, минерализуя вещества до неорганического фосфата (140—150°, 3 часа с  $\text{HClO}_4$ ).

**Анализ реакционной смеси.** Анализ проводили на аминокислотном анализаторе Evans Electroselenium Limited «LGD» (Англия) после прекращения реакции при добавлении равного объема 10% ТХУ, 10-минутного центрифугирования при 3000 об/мин и доведения раствора до pH 2,2. Смесь наносили на колонку (0,9×150 см) со смолой Амберлит CG-120 (Cl); элюировали 0,2 м. цитратным буфером с pH 3,25.

Реакционную смесь анализировали методом колоночной хроматографии на анионообменной смоле Дауэкс 1×2 (200—400 меш, 47×1,8 см). Вещества элюировали при постоянно возрастающем градиенте: от 0,1 м. муравьиной кислоты до 1 м. формата пиридина (объем склянки смешивания 650 мл). При этих условиях элюации фосфотаноламин выходил в первых 100 мл элюата. Элюат упаривали в вакууме до небольшого объема (0,3—0,5 мл) и анализировали с помощью бумажной хроматографии в системе пропанол—2 н. аммиак (70:30), электрофоретически (1000 в, 2 часа, pH 5,6) и минерализацией при 140—150° 3 часа с  $\text{HClO}_4$ .

**Ферментативный гидролиз.** Процесс изучали, используя реакционную смесь, содержащую в 1 мл 1 мкмол субстрата, 2 мкмол  $\text{MgSO}_4$ , 50 мкмол цитратного или ацетатного буфера и 150 мкг фермента; смесь инкубировали 15 мин. при 37°. Реакцию прекращали добавлением равного объема 10% ТХУ и определяли количество отделившегося неорганического фосфата.

**Фосфотрансферазная активность кислой фосфатазы.** Исследования осуществляли в реакционной смеси, содержащей в 0,5 мл 5 мкмол серилпирофосфата (I) или *n*-нитрофенилфосфата, 500 мкмол этаноламина, доведенного заранее добавлением  $\text{HCl}$  до pH 5,5 и 250 мкг фермента. Смесь инкубировали 30 мин. при 37° и анализировали на аминокислотном анализаторе.

Реакционную смесь (pH 5,5), содержащую в 0,5 мл 5 мкмол серилпирофосфата (I), 1000 мкмол этаноламина и 125 мкг фермента, выдерживали 30 мин. при 37°; анализировали методом колоночной хроматографии.

Реакционную смесь, содержащую в 0,5 мл 1 мкмол *n*-нитрофенилфосфата, 500 мкмол метанола, пропанола, глицерина, глюкозы или бутан-1,4-диола, 50 мкмол ацетатного буфера с pH 5,5 и 150 мкг фермента, инкубировали 15 мин. при 25°. Реакцию прекращали добавлением 10% ТХУ. В аликвотной части полученного раствора измеряли количество *n*-нитрофенола и фосфорной кислоты. Во всех случаях наблюдали образование эквимольных количеств обоих продуктов гидролиза.

Как влияет концентрация акцептора на фосфотрансферазную активность фермента, определяли несколькими способами: а) в реакционной смеси, содержащей в 0,5 мл 5 мкмол *n*-нитрофенилфосфата, 500, 1000 или 2000 мкмол глюкозы, 50 мкмол ацетатного буфера (pH 5,5) и 150 мкг фермента; смесь инкубировали 10 мин. при 25°; в аликвотной части реакционной смеси находили количество освободившихся *n*-нитрофенола и фосфорной кислоты и обнаруживали эквимольные количества обоих веществ; б) реакционную смесь (pH 5,5), содержащую в 0,5 мл 5 мкмол *n*-нитрофенилфосфата, 500, 1000 или 1500 мкмол этаноламина и 150 мкг или 600 мкг фермента, инкубировали 5 мин. при 37°. Далее поступали так, как описано в а.

Выяснение влияния времени инкубации на фосфотрансферазную активность фермента проводили: а) в реакционной смеси (рН 5,5), содержащей в 0,5 мл 5 мкмол *p*-нитрофенилфосфата, 500 мкмол этаноламина и 150 мкг фермента; смесь инкубировали 5, 20 и 40 мин. при 37°; б) реакционную смесь, содержащую в 0,5 мл 1,0 мкмол *p*-нитрофенилфосфата, 500 мкмол пропанола, 50 мкмол ацетатного буфера (рН 5,5 или 5,2) и 30 мкг фермента, инкубировали 1 или 2 часа при 25°. Во всех случаях происходило образование эквимольных количеств *p*-нитрофенола и неорганического фосфата.

Использованные в работе серилсодержащие соединения являлись производными *D*, *L*-серина.

### ВЫВОДЫ

Пирофосфорная связь метиламида *N*-бензоил-О-пирофосфосерина расщепляется кислой фосфатазой из отрубей пшеницы. Скорость расщепления пирофосфорной связи значительно выше, чем фосфомоноэфирной. Препарат кислой фосфатазы из отрубей пшеницы не катализирует фосфотрансферазную реакцию, что свидетельствует о различном строении активных центров и механизмов действия кислой фосфатазы отрубей пшеницы и щелочной фосфатазы *E. coli*.

### ЛИТЕРАТУРА

- [1] С. М. Аваева, М. М. Ботвинник, И. Ф. Сыромятникова. ЖОХ, сб. «Химия природных соединений, их аналогов и фрагментов», 154 (1965). [2] С. М. Аваева, С. Н. Кара-Мурза, М. М. Ботвинник. ЖОХ, 36, 1509 (1966). [3] С. М. Аваева, С. Н. Кара-Мурза, Н. В. Раськова, М. М. Ботвинник. ХПС, 328 (1967); С. М. Аваева, С. Н. Кара-Мурза, Г. Л. Коган, Н. В. Раськова, М. М. Ботвинник. ДАН СССР, 172, 1436 (1967). [4] С. М. Аваева, С. Н. Кара-Мурза, М. М. Ботвинник. Биохим., 32, 5 (1967). [5] С. М. Аваева, Г. Л. Коган, С. Н. Кара-Мурза, М. М. Ботвинник. Вестник МГУ, сер. хим., № 4, 87 (1967). [6] С. М. Аваева, Н. В. Раськова, М. М. Ботвинник. Биохим., 33, 847 (1968). [7] O. Meyerhof, H. Green, Science, 110, 503 (1949); R. Morton. Biochem. J. 70, 139 (1957); J. Wilson, J. Dayan, K. Cyr. J. Biol. Chem., 239, 4182 (1964). [8] B. Axelrod, J. Biol. Chem., 172, 1 (1948); O. Meyerhof, H. Green, J. Biol. Chem., 178, 655 (1949); R. Morton. Biochem. J. 70, 150 (1958); J. Ullrich, M. Calvin. Biochem. Biophys. Acta, 63, 1 (1962). [9] C. Anagnostopoulos, A. Lino, Bull. Soc. Chim. Biol., 39, 781 (1957). [10] С. М. Аваева, Н. В. Раськова, А. Т. Мевх. Вестник МГУ, № 4, 121 (1968). [11] С. М. Аваева, М. М. Ботвинник, И. Ф. Сыромятникова. Acta Chim. Hung., 44, 223 (1965). [12] H. Weil-Malherbe, R. Green. Biochem. J., 49, 286 (1951).

Московский госуниверситет  
им. М. В. Ломоносова

Поступило  
14. VI 1968 г.

УДК 615.779.931+547.917

## ОЛИВОМИЦИН И РОДСТВЕННЫЕ АНТИБИОТИКИ

### XVI. АНТИБИОТИКИ NSC A—640 И АБУРАМИЦИН\*

Ю. А. Берлин, И. В. Васина, О. А. Киселева, М. Н. Колосов, Е. И. Лупач,  
Г. М. Смирнова, В. С. Соффер, И. В. Ярцева, В. Д. Кузнецов

Из группы противоопухолевых антибиотиков, начало которой было положено открытием ауреоловой кислоты [2], в настоящее время хорошо изучены и практически применяются в онкологии только два анти-

\* Сообщение XV см. [1].